

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ N.º de publicación: ES 2 034 884

⑫ Número de solicitud: 9101610

⑬ Int. Cl.º: C07F 9/10

A61K 31/685

⑭

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑮ Fecha de presentación: 10.07.91

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: 01.04.93

⑰ Fecha de publicación del folleto de la solicitud: 01.04.93

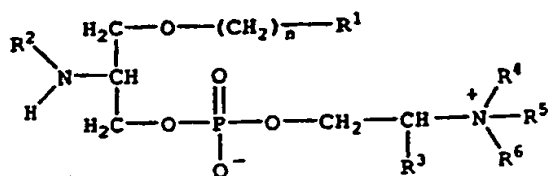
⑱ Solicitante/es: Laboratorios Menarini, S.A.
Alfonso XII, 587
Badalona, Barcelona, ES

⑲ Inventor/es: Cargánico, Germano;
Mauleon Casellas, David;
García Pérez, M. Luisa y
Palomer Benet, Albert

⑳ Agente: Durán Moya, Luis Alfonso

㉑ Título: Procedimiento para la preparación de nuevos 2-azafosfolípidos.

㉒ Resumen:
Procedimiento para la preparación de nuevos 2-azafosfolípidos.
La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de 2-azafosfolípidos representados por la fórmula I



I

donde R¹ es hidrógeno o fenilo; n es un entero entre 10 y 20; R² es hidrógeno, alquilo, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo o alquilsulfonilo o sus correspondientes arilalquilos de menos de 21 átomos de carbono; R³ es hidrógeno, carboxilo, alcoxicarbonilo o ariloxicarbonilo de menos de 10 átomos de carbono; y R⁴, R⁵ y R⁶, iguales o diferentes entre sí, son hidrógeno, grupos alquilo de cadena corta, arilo o arilalquilo, o bien R⁴R⁵R⁶N⁺ representa un grupo amonio cíclico. Dichos compuestos son inhibidores de la PLA₂, pudiendo ser utilizados como antiinflamatorios, antialérgicos, anti-trombóticos, antiasmáticos y en la prevención del shock anafiláctico.

DESCRIPCION

5

10

15

25

30

35

40

45

50



60

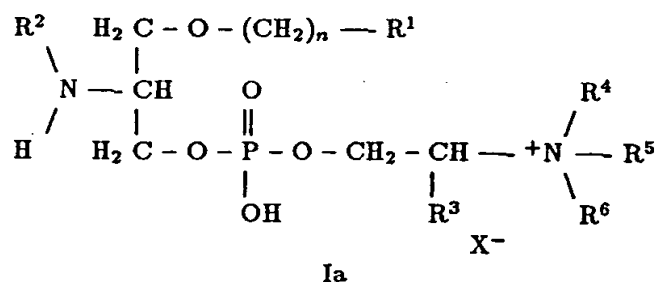
donde R¹ es hidrógeno o fenilo;
n es un entero comprendido entre 10 y 20;

R^2 es hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 20 átomos de carbono o bien un grupo R^7 -CO-, R^7 -O-CO-, R^7 -SO₂-, en los que R^7 es un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 20 átomos de carbono, fenilo o una cadena arilalquílica de menos de 20 átomos de carbono;

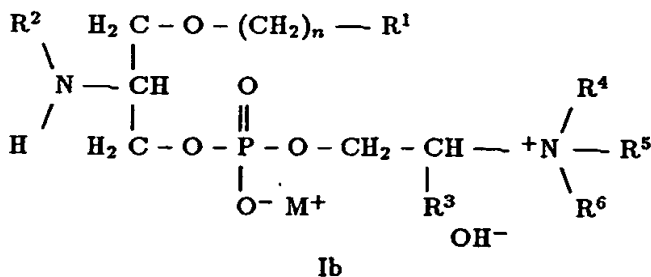
R^3 es un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo alcóxicarbonilo, arilóxicarbonilo o arilalcóxicarbonilo de menos de 10 átomos de carbono en los tres últimos casos, con la excepción de que R^3 no puede ser hidrógeno cuando R^1 es también hidrógeno;

R^4 , R^5 y R^6 , iguales o diferentes entre sí, son hidrógeno, grupos alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, arilo o arilalquilo de menos de 12 átomos de carbono, o bien $R^4R^5R^6N^+$ representa un grupo amonio aromático cíclico del tipo 1-piridinio, 1-quinolinio, 1-imidazolio, 1-pirazolio, 3-tiazolio, o bien $R^4R^5R^6N^+$ representa un grupo amonio cíclico no aromático en el que dos de los grupos (R^4 , R^5 ó R^6) forman un anillo junto con el átomo de nitrógeno, del tipo 1-pirrolidina, 1-piperidina, 4-morfolina, y el grupo restante es hidrógeno o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono.

Los compuestos de fórmula general I pueden obtenerse en forma de sal, tal como se representa por la fórmula Ia

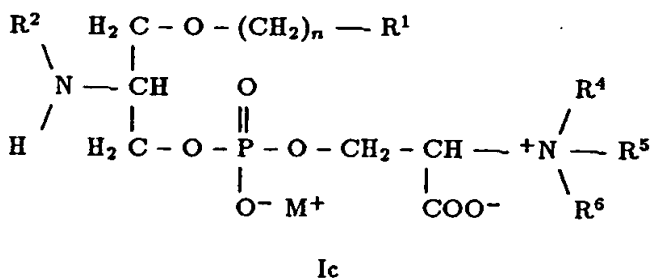


donde X^- es un anión farmacéuticamente aceptable, tal como cloruro, bromuro o yoduro, y los otros símbolos son los definidos antes, o por la fórmula Ib



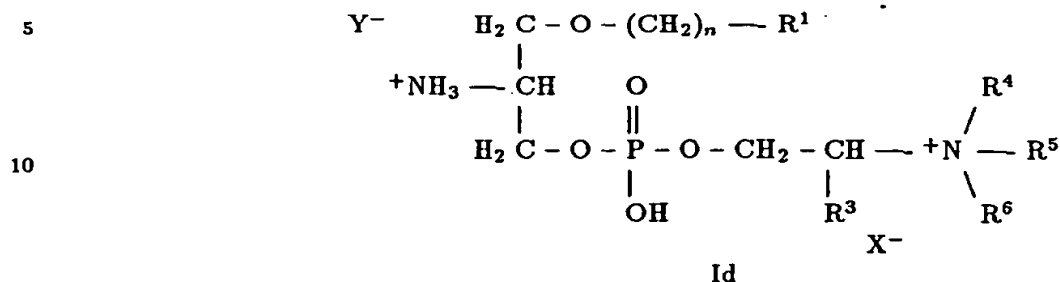
donde M^+ es un catión metálico alcalino (ej. Na^+ , K^+), o representa una cantidad mitad de un catión metálico alcalinotérreo (ej. $1/2 Ca^{2+}$, $1/2 Mg^{2+}$) y los otros símbolos son los definidos antes.

En el caso que R^3 sea un grupo carboxilo los compuestos de fórmula I pueden obtenerse también en forma de sal, tal como se representa por la fórmula Ic



donde todos los símbolos tienen el significado anterior.

En el caso que R^2 sea un hidrógeno los compuestos de fórmula I pueden obtenerse también en forma de sal, tal como se representa por la fórmula Id.



donde Y^- es un anión farmacéuticamente aceptable de un ácido inorgánico (por ejemplo clorhídrico o sulfúrico) o de un ácido orgánico carboxílico (como acético, trifluoroacético, láctico o tartárico), o de un ácido orgánico sulfónico (como metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico o toluenosulfónico).

Los compuestos de fórmula general I poseen uno o más carbonos asimétricos en su estructura. La presente invención incluye todos los posibles estereoisómeros así como sus mezclas.

En los compuestos de fórmula general I, cuando R^2 representa un grupo alquilo éste puede ser por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, decilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo o icosilo; cuando R^2 representa un grupo $\text{R}^7\text{-CO-}$, $\text{R}^7\text{-O-CO-}$ o $\text{R}^7\text{-SO}_2\text{-}$, en los que R^7 representa un grupo alquilo o arilalquilo, éste puede ser por ejemplo metilo, etilo, propilo, butilo, decilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, icosilo, bencilo, 11-fenilundecilo o 14-feniltetradecilo; cuando R^3 representa un grupo alcóxicarbonilo o arilalcóxicarbonilo, éste puede ser por ejemplo metóxicarbonilo, etóxicarbonilo, propilóxicarbonilo, fenóxicarbonilo; cuando R^4 , R^5 y R^6 representan grupos alquilo, éstos pueden ser por ejemplo metilo, etilo o propilo; cuando R^4 , R^5 y R^6 representan grupos arilo o arilalquilo, éstos pueden ser por ejemplo fenilo o bencilo; cuando $\text{R}^4\text{R}^5\text{R}^6\text{N}^+$ representa un grupo amonio aromático cíclico, éste puede ser por ejemplo 1-piridinio, 1-quinolinio, 1-imidazolio, 1-pirazolio o 3-tiazolio; cuando $\text{R}^4\text{R}^5\text{R}^6\text{N}^+$ representa un grupo amonio cíclico no aromático en el que dos de los grupos (R^4 , R^5 o R^6) forman un anillo junto con el átomo de nitrógeno, éste puede ser por ejemplo del tipo 1-pirrolidina, 1-piperidina o 4-morfolina, y el grupo restante cuando representa un grupo alquilo puede ser por ejemplo metilo o etilo.

Son realizaciones preferidas de la presente invención aquellas en las que en los productos de fórmula I obtenidos:

- R^1 , R^2 y n son los grupos y valores antes definidos;

- R^3 es un hidrógeno, un grupo carboxilo o un grupo alcóxicarbonilo de menos de 10 átomos de carbono, preferiblemente grupos metilo o etilo.

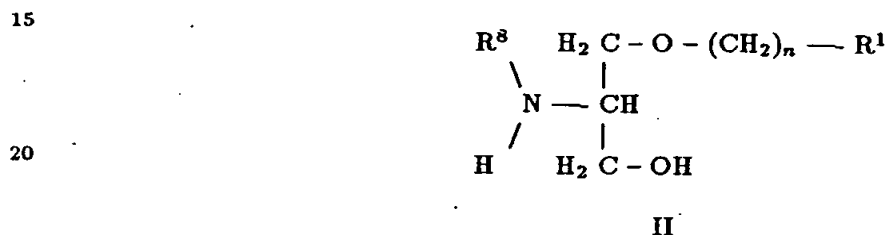
- R^4 , R^5 y R^6 son hidrógeno o grupos alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, preferiblemente grupos metilo.

En particular, son realizaciones especialmente preferidas de la presente invención aquellas en las que los productos I obtenidos son los siguientes:

1-O-(11-fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(11-fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina
 1-O-(11-fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoetanolamina
 1-O-(11-fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(11-fenilundecil)-2-amino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(14-feniltetradecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(14-feniltetradecil)-2-metilsulfonilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(14-feniltetradecil)-2-acetilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-acetilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoetanolamina

- 1-O-(14-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina éster metílico
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-amino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-amino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecilsulfonilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoetanoamina
 5 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-metilsulfonilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-metilsulfonilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina
 1-O-(18-feniloctadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina
 1-O-(18-feniloctadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina
 1-O-hexadecil-2-hexanodecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina
 10 1-O-hexadecil-2-hexanodecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina éster metílico

Según la presente invención, los compuestos de fórmula general I se obtienen a través de un procedimiento caracterizado porque un compuesto de fórmula II,

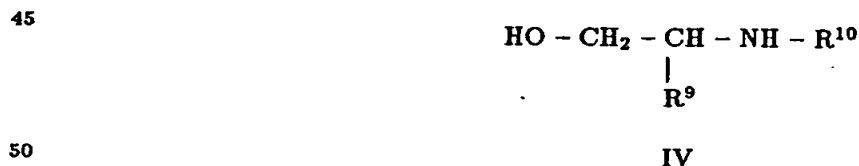


- 25 donde n y R¹ tienen los valores anteriormente definidos y R³ puede ser equivalentes al grupo R² anterior o bien, si R² en la fórmula I es hidrógeno, entonces R³ es un grupo protector de aminas adecuado, por ejemplo trifenilmetilo; se hace reaccionar:

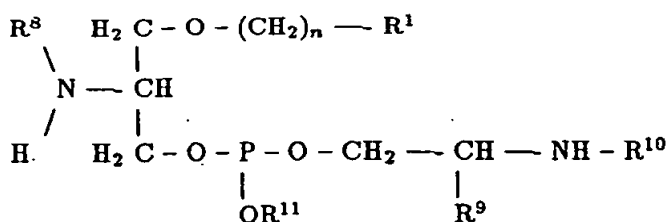
- a) en el caso de que R³ en I signifique los grupos antes definidos excepto hidrógeno, con un reactivo III



- 35 donde X es halógeno, preferiblemente cloro, e Y es cloro, ariloxi o un grupo alcoxi de menos de 8 átomos de carbono, en presencia de una base captadora de protones, tal como la trietilamina y/o una base moderadamente nucleófila como el imidazol y/o con agentes condensantes, como por ejemplo el cloruro de pivaloilo, en el seno de disolventes apropiados como acetonitrilo o tolueno, a una temperatura comprendida entre 0° y 40°C durante un periodo de tiempo entre 3 y 18 horas. Subsiguientemente se hace reaccionar con un producto IV,

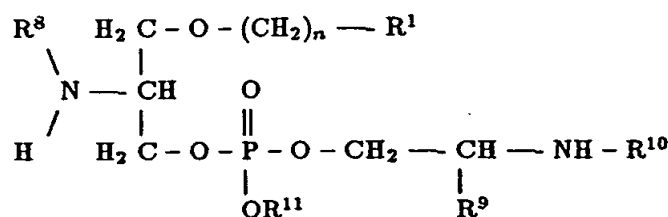


- 45 donde R⁹ puede ser equivalente al grupo R³ en la fórmula I excepto hidrógeno y cuando en I, R³ es un grupo carboxilo, entonces R⁹ es un grupo carboxilo convenientemente protegido, por ejemplo en forma de éster bencílico, o terc-butílico, y R¹⁰ es un grupo protector de aminas, preferiblemente benciloxycarbonilo
 50 o terc-butiloxycarbonilo, obteniéndose así un intermedio de fórmula V,
 55



V

donde R^{11} es hidrógeno, o un grupo protector adecuado, como por ejemplo metilo o fenilo; a través de la oxidación de este compuesto V, preferiblemente con iodo o peróxido de hidrógeno, en un disolvente apropiado, como cloruro de metileno o piridina húmeda, a una temperatura comprendida entre 0° y 25°C durante un periodo de tiempo entre 1 y 5 horas, se obtiene un intermedio VI,



VI

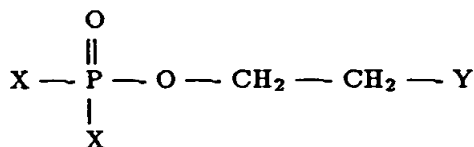
este compuesto de fórmula VI se convierte en I por eliminación del grupo protector R^{10} y, en su caso, los grupos protectores R^{11} y el que puede estar presente en R^9 , según los métodos habituales en síntesis orgánica.

Así pues, cuando R^9 es un éster bencílico y R^{10} es un benciloxycarbonilo, los grupos bencílicos se pueden eliminar mediante hidrogenación catalítica con Pd-C o con $\text{Pd}(\text{OH})_2$, en disolventes tales como metanol, agua o ácido acético, a presiones de hidrógeno comprendidas entre presión atmosférica y 50 psi. Cuando R^9 es un éster terc-butílico y R^{10} es un terc-butiloxycarbonilo, los grupos terc-butílicos se pueden eliminar en medio ácido, por ejemplo con HCl seco o ácido trifluoroacético, en un disolvente apropiado como cloroformo. Cuando R^{11} es un grupo fenilo, éste puede eliminarse por hidrogenación catalítica, por ejemplo con PtO_2 en disolventes apropiados como metanol a presiones de hidrógeno comprendidas entre presión atmosférica y 50 psi.

Cuando R^{11} es un metilo, éste puede eliminarse por tratamiento con diferentes sales como NaI o LiBr en un disolvente adecuado, como por ejemplo butanona, a una temperatura comprendida entre temperatura ambiente y reflujo del disolvente.

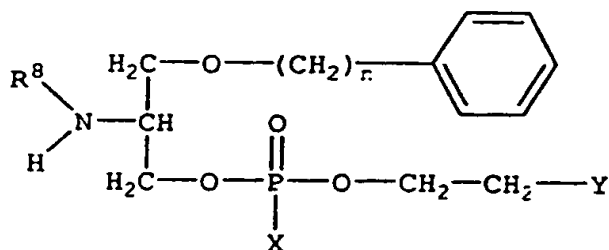
Si R^8 en la fórmula VI es un grupo protector de amina como tritilo, se lleva a cabo su desprotección en condiciones ácidas, utilizando como ácido por ejemplo el trifluoroacético, obteniendo de este modo los compuestos I con R^2 igual a hidrógeno, los cuales a su vez pueden convertirse opcionalmente en los compuestos I restantes con R^2 diferente de hidrógeno, mediante una reacción de alquilación, acilación o sulfonilación con los haluros de alquilo o los haluros o anhídridos de ácido (R^7X , R^7COX , R^7OCOX ó $\text{R}^7\text{SO}_2\text{X}$) apropiados.

b) En el caso de que en I R^1 sea un grupo fenilo y R^3 sea hidrógeno, un producto de fórmula II se hace reaccionar con un reactivo VII,



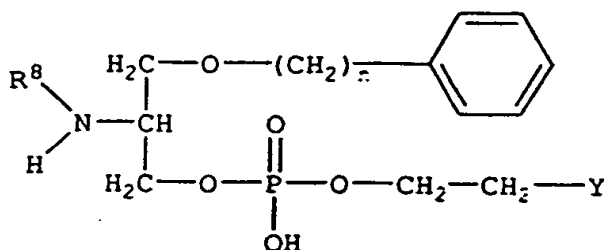
VII

donde X es halógeno, preferiblemente cloro, e Y es halógeno, preferiblemente bromo, en presencia de una amina tal como la trietilamina en el seno de un disolvente orgánico inerte, tal como éter etílico o THF a una temperatura comprendida entre 0° y 50°C durante un periodo de tiempo entre 6 y 24 horas, para dar un compuesto de fórmula VIII



VIII

donde n, R⁸, X e Y son los valores y grupos antes descritos. Seguidamente la hidrólisis acuosa, usando una disolución salina, tal como disolución de cloruro potásico a una temperatura comprendida entre 0° y 80°C durante un periodo de tiempo entre 1 y 3 horas, conduce a la obtención de un compuesto de fórmula IX



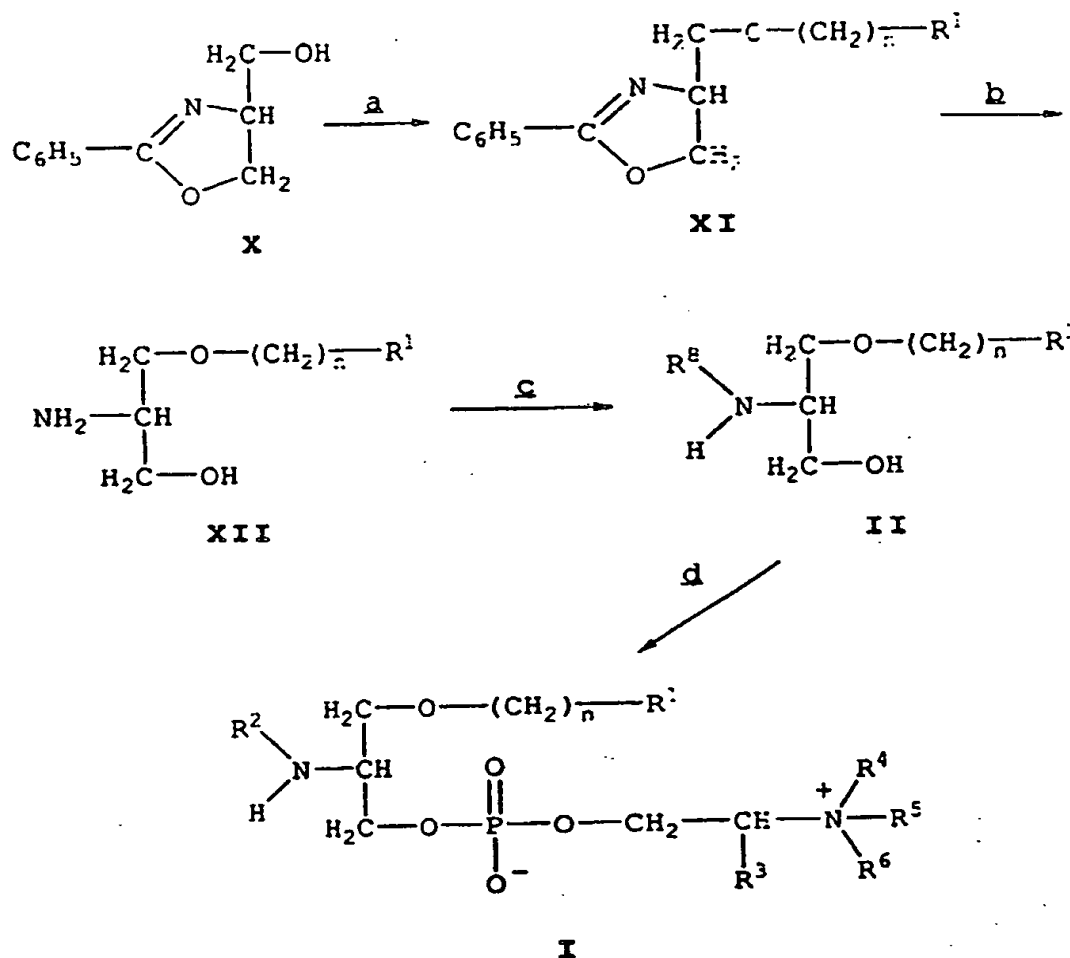
IX

Este compuesto IX, donde n y R⁸ son los valores y grupos antes definidos, se hace reaccionar con una amina adecuada NR⁴R⁵R⁶, donde R⁴, R⁵ y R⁶ son los grupos antes definidos, en el seno de un disolvente orgánico apropiado, tal como acetonitrilo, cloroformo o benceno, a una temperatura comprendida entre 40°C y reflujo del disolvente durante un periodo de tiempo entre 24 y 48 horas, para dar directamente, cuando R⁸ es igual a R², un compuesto de fórmula I; o bien en caso de que R⁸ sea un grupo protector de amina, se efectúa su desprotección por los métodos habituales para obtenerse un producto I con R² igual a hidrógeno, el cual opcionalmente puede convertirse en los compuestos I restantes, tal como se ha indicado más arriba.

Finalmente, si se desea obtener una determinada sal de I, se trata con el ácido, la base o el intercambiador iónico apropiado para tal fin, según los métodos habituales en química.

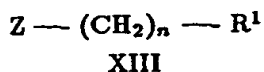
Un producto de partida II pueden prepararse, por ejemplo, siguiendo la secuencia sintética que se muestra en el Esquema 1.

Esquema 1



El compuesto de fórmula X es un producto conocido, cuya preparación está bien documentada en la literatura (Hajdu et al. *J. Org. Chem.*, **48**, 1187 (1983)).

Un compuesto de fórmula XI se puede obtener (etapa a), por ejemplo, haciendo reaccionar el compuesto X con un compuesto XIII



donde R^1 y n representan los grupos y valores antes indicados, y Z representa un grupo saliente apropiado (por ejemplo, bromuro, ioduro, mesilato o tosilato), en presencia de una base fuerte como el hidruro sódico o el hidruro potásico, en el seno de un disolvente apropiado como la dimetilformamida o el benceno, a una temperatura comprendida entre 10° y 100°C durante un periodo de tiempo entre 3 y 24 horas. Los compuestos de fórmula XIII con R^1 igual a hidrógeno son asequibles comercialmente cuando Z es un halógeno, o bien pueden prepararse fácilmente a partir de los alcoholes comerciales correspondientes por reacciones de sulfonilación con cloruro de metanosulfonilo ó 4-toluenosulfonilo en presencia de bases como la trietilamina en disolventes adecuados como el cloruro de metileno. Los compuestos de fórmula XIII con R^1 igual a fenilo pueden prepararse por ejemplo según la secuencia sintética que se muestra en el Esquema 2.



40

45

55

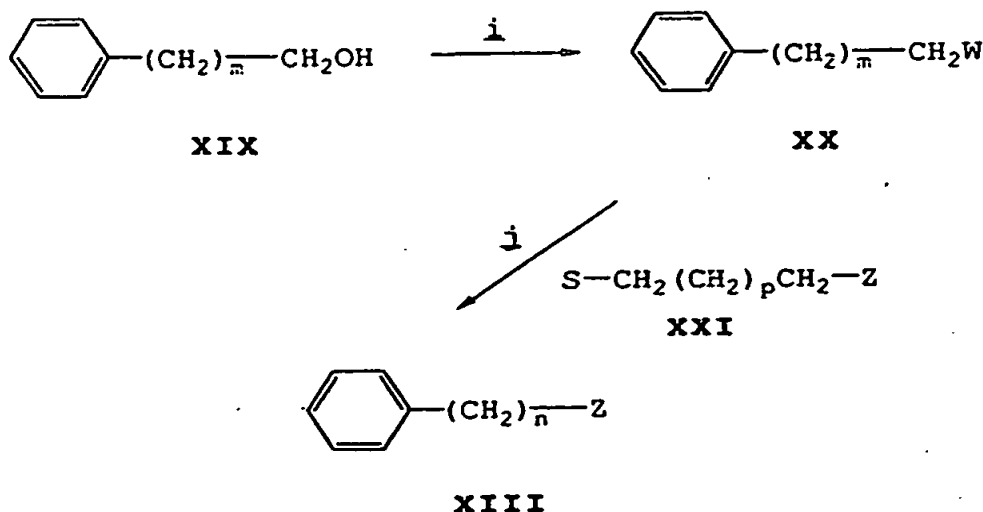
60

Finalmente un compuesto XIII, donde n y Z representan los valores antes indicados, se obtiene (etapa

h) cuando Z es un grupo metanosulfonilo ó 4-toluenosulfonilo a través de sulfonilación con el correspondiente cloruro de sulfonilo como ya se ha indicado más arriba; o bien cuando Z es un halógeno como por ejemplo bromo por tratamiento del alcohol XVIII con soluciones acuosas de ácido bromhídrico en medio ácido fuerte como el ácido sulfúrico a una temperatura comprendida entre 40°C y reflujo del disolvente y durante un período comprendido entre 24 y 72 horas.

Alternativamente, un compuesto de fórmula XIII puede obtenerse a partir de un compuesto XIX, tal como se muestra en el Esquema 3, por reacción de sustitución (etapa i) del grupo hidroxilo por un grupo halógeno (ej. bromo o iodo), tal como se ha descrito más arriba, obteniéndose un compuesto XX, donde W es un halógeno, preferiblemente bromo, el cual a través de la formación de un reactivo de Grignard por tratamiento con magnesio metal, seguida de adición de dicho reactivo a un compuesto de fórmula XXI, donde S representa un grupo halógeno, preferiblemente bromo, y p y Z representan los grupos y valores definidos anteriormente, adición catalizada por un compuesto de cobre, como por ejemplo el tetraclorocuprato de litio.

Esquema 3



Un compuesto XII se obtiene a partir de XI, según la etapa b del Esquema 1, a través por ejemplo de hidrólisis en medio ácido, como ácido clorhídrico o sulfúrico, en el seno de un disolvente apropiado como dioxano, a una temperatura comprendida entre 25°C y reflujo del disolvente, durante un período de tiempo entre 18 y 36 horas.

Finalmente, según la etapa c del Esquema 1, se obtienen los compuestos de fórmula II, donde n y R¹ representan los valores antes indicados y R⁸ es equivalente a R² excepto hidrógeno, por reacción entre un compuesto de fórmula XII y un haluro de alquilo o acilo (R⁷X, R⁷COX, R⁷SO₂X) apropiado, tal como se ha mencionado anteriormente. Cuando R⁸ es un grupo protector de aminas, como por ejemplo trifenilmetilo, se puede obtener por reacción del grupo amino en el compuesto XII con cloruro de trifenilmetilo en presencia de una base como la trietilamina, en el seno de un disolvente apropiado como el cloruro de metileno, a una temperatura comprendida entre 0° y 80°C, durante un período de tiempo entre 5 y 24 horas.

Los compuestos de la presente invención muestran una marcada actividad como inhibidores de la actividad de la PLA₂, en virtud de lo cual poseen propiedades antiinflamatorias y antialérgicas que los hacen útiles en el tratamiento de las enfermedades en las que este enzima se halla implicado. Por ello dichos compuestos pueden ser utilizados en terapia humana, encontrando aplicación en la prevención y tratamiento de rinitis alérgica, asma bronquial, reacciones de hipersensibilidad como conjuntivitis alérgica, varias condiciones inflamatorias como las que se presentan en la artritis reumática, osteoartritis, tendinitis, bursitis, psoriasis y otras inflamaciones relacionadas.

Para utilizar terapéuticamente los compuestos de la presente invención, éstos son formulados en la oportuna forma farmacéutica, recurriendo a técnicas y excipientes convencionales, como los descritos en Remington's Pharmaceutical Science Handbook, Mack Pub. Co., N.Y., USA. Ejemplo de tales formas comprenden cápsulas, comprimidos, jarabes y similares conteniendo de 1 a 1000 mg por dosis unitaria.

5 Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran la preparación y análisis de la actividad farmacológica de los compuestos de la presente invención.

10 Ejemplo 1

Bromuro de (6-etoxicarbonilhexil)trifenilfosfonio (XV, p = 5).

- 15 A una solución de 7-bromoheptanoato de etilo (20.0 g, 84.4 mmol) en acetonitrilo (160 ml), se añaden 24.4 g (93.13 mmol) de trifenilfosfina. Se calienta a reflujo durante 4 días, se evapora a sequedad y el residuo se digiere con éter etílico, obteniéndose el compuesto del título como un aceite viscoso con un 93% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, Rf = 0.59

- 20 R.M.N. ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ ppm: 0.97 (t, 3H); 1.10 (m, 2H); 1.40 (m, 6H); 2.05 (t, 2H); 3.30 (m, 2H); 3.80 (q, 2H); 7.60 (m, 15H).

Ejemplo 2

- 25 *11-Fenilundec-7-enoato de etilo* (XVI, m = 3, p = 5).

- A una solución de amiduro sódico (1.43 g, 36.8 mmol) en DMF anhidra se añade, en atmósfera inerte, una solución de bromuro de (6-etoxicarbonilhexil) trifenilfosfonio (18.34 g, 36.8 mmol) en DMF (60 ml). Se agita 1.5 h a temperatura ambiente. A continuación se enfría a 0°C y se añade una solución de 30 4-fenilbutanal (5.0 g, 33.8 mmol) en DMF (14 ml). Se deja en agitación durante 18 h a temperatura ambiente. Se adiciona agua, se extrae con hexano, se seca y se eliminan los disolventes, obteniéndose el compuesto del título como un aceite amarillento con un 55% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente éter etílico, Rf = 0.76

- 35 R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.24 (t, 3H); 1.35 (m, 4H); 1.64 (m, 4H); 2.05 (m, 4H); 2.25 (t, 2H); 2.60 (t, 2H); 4.10 (q, 2H); 5.40 (m, 2H); 7.15 (m, 5H).

Ejemplo 3

11-Fenilundecanoato de etilo (XVII, q = 10).

- 40 A una solución de 11-fenilundec-7-enoato de etilo (4.35 g, 15.0 mmol) en etanol (86 ml), se añaden 1.52 g de paladio sobre C del 10% y se deja en agitación durante 18 h a temperatura ambiente bajo atmósfera de H_2 . Se filtra y se evapora el disolvente, obteniéndose 3.66 g del producto del título con un 84% de rendimiento.

- 45 C.C.F.: eluyente hexano:éter etílico, 2:1, Rf = 0.54

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.24 (t, 3H); 1.35 agudo, 10H); 1.64 (m, 4H); 2.25 (t, 2H); 2.60 (t, 2H); 4.10 (q, 2H); 7.20 (m, 15H).

Ejemplo 4

- 50 *11-Fenilundecanol* (XVIII, n = 11).

- A una suspensión de LiAlH_4 (0.511 g, 13.46 mmol) en éter etílico anhidro (200 ml) se añade una solución de 11-fenilundecanoato de etilo (5.197 g, 17.92 mmol) en éter etílico (75 ml). Se deja a reflujo 55 durante 5 h. A continuación se enfría a 0°C y se destruye el exceso de hidruro con una solución de tartrato sódico potásico. Se filtra, se lava con acetato de etilo, se seca y se eliminan los disolventes, obteniéndose un crudo que se purifica por cromatografía flash en columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de éter de petróleo:éter etílico de polaridad creciente se aislan 3.609 g del producto del título como un aceite incoloro (80% de rdo.).

- 60 C.C.F.: eluyente éter etílico, Rf = 0.58

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.35 (m agudo, 14H); 1.64 (m, 2H); 1.74 (m, 2H); 2.65 (t, 2H); 3.65 (t, 2H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 5

Metanosulfonato de 11-fenilundecilo (XIII, $R^1 = C_6H_5$, $n = 11$, $Z = OSO_2CH_3$).

A una solución de 11-fenilundecanol (2.77 g, 11.19 mmol) en cloruro de metileno (85 ml) se añade a 0°C, 3.02 ml de trietilamina y 2.0 ml (25.63 mmol) de cloruro de metanosulfonilo. Se deja en agitación a 0°C durante 5 h. A continuación se lava con HCl 2M, solución de $NaHCO_3$ del 5% y solución saturada de NaCl, se seca y se elimina el disolvente, obteniéndose un crudo que se purifica cromatografía flash en columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de éter de petróleo:éter etílico de polaridad creciente se obtienen 3.43 g del compuesto del título con un 94% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente hexano:éter etílico, 1:1, $R_f = 0.64$

R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.30 (m agudo, 14H); 1.64 (m, 2H); 1.74 (m, 2H); 2.60 (t, 2H); 2.98 (s, 3H); 4.02 (t, 2H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 6

1-Bromo-4-fenilbutano (XX, $m = 3$, $W = Br$).

Se mezcla 15.98 g (mmol) de 4-fenilbutanol, 25.2 ml de solución acuosa de HBr del 48% y 6.38 ml de H_2SO_4 concentrado. Se deja a reflujo durante 48 h. A continuación se lleva a temperatura ambiente, se diluye con hielo-agua y se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con agua, solución de carbonato sódico del 2% y solución saturada de cloruro sódico. Se seca y se elimina el disolvente, obteniéndose el producto del título que se purifica por destilación a presión reducida (100°C/0.1 torr) (77% de rdt.).

C.C.F.: eluyente hexano:acetato de etilo, 1:1, $R_f = 0.66$

R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.82 (m, 2H); 1.95 (m, 2H); 2.70 (t, 2H); 3.45 (t, 2H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 7

1-Bromo-16-fenilhexadecano (XIII, $R^1 = C_6H_5$, $n = 16$, $Z = Br$).

A una mezcla de magnesio (2.57 g, 105.6 mmol) en tetrahydrofurano anhidro (20 ml) se adiciona, lentamente una solución de 1-bromo-4-fenilbutano (15.0 g, 70.4 mmol) en tetrahydrofurano (60 ml), y unos cristales de iodo. Acabada la adición se deja a reflujo durante 45 min, y luego se lleva a temperatura ambiente, obteniéndose el bromuro de 4-fenilbutilmagnesio en solución de tetrahydrofurano. Esta disolución se adiciona lentamente sobre una disolución bien agitada de 1,12-dibromododecano (20.53 g, 61.6 mmol) y Li_2CuCl_4 (6.16 ml, 0.62 mmol) en 20 ml de tetrahydrofurano anhidro, cuidado que durante la adición la temperatura de la mezcla no supere los 10°C. La mezcla resultante se deja en agitación a temperatura ambiente durante 18 h. A continuación se añaden 100 ml de solución saturada de cloruro amónico y se extrae con éter etílico. Las fases orgánicas se lavan con solución saturada de cloruro sódico, HCl 2N, solución saturada de carbonato sódico y agua, se secan y se evaporan los disolventes, obteniéndose un crudo que se somete a destilación a presión reducida, eliminándose en primer lugar el exceso de 1,12-dibromododecano 8100-125°C/0.1 torr). El compuesto del título destila a 180°C/0.07 torr y se obtiene con un 65 % de rendimiento.

C.C.F.: eluyente hexano, $R_f = 0.25$

R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.30 (m agudo, 24H); 1.60 (m, 2H); 1.85 (m, 2H); 2.65 (t, 2H); 3.40 (t, 2H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 8

2-Fenil-4-[(16-fenilhexadecilo)metil]-2-oxazolina (XI, $n = 16$, $R^1 = C_6H_5$).

A una suspensión de NaH (1.53 g, 51.0 mmol) del 80% y DMF anhidra (120 ml) se añaden 1.81 g (10.2 mmol) de 2-fenil-4-(hidroximetil)-2-oxazolina disueltos en 10 ml de DMF. Se agita 1.5 h a temperatura ambiente y 2 h a 55°C. Se enfría a 0°C y se adiciona una solución de 1-bromo-16-fenilhexadecano (5.85 g, 15.3 mmol) en DMF. La mezcla se agita durante 18 h a temperatura ambiente, luego se añade etanol y agua, se extrae con éter etílico, se seca y se evapora el disolvente, obteniéndose un crudo que se purifica por cromatografía flash en columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de éter de petróleo:cloroformo de polaridad creciente se obtienen 4.38 g del compuesto del título con un 90% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente cloroformo, $R_f = 0.26$

R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.26 (m agudo, 24H); 1.59 (m, 4H); 2.60 (t, 2H); 3.45 (m, 3H);

3.74 (dd, 1H); 4.32 (m agudo, 1H); 4.49 (m, 2H); 7.2-8.0 (señal compleja, 10H).

Ejemplo 9

5 *2-Fenil-4-[(11-fenilundeciloxi)metil]-2-oxazolina* (XI, $n = 11$, $R^1 = C_6H_5$).

A una suspensión de KH (4.24 g, 21.2 mmol) del 20%, lavado con éter de petróleo anhidro, en benceno anhidro (112 ml) se añaden, gota a gota a 0°C, 1.50 g (8.4 mmol) de 4-(hidroximetil)-2-oxazolina disueltos en benceno (20 ml). Acabada la adición se lleva a temperatura ambiente y se deja en agitación durante 30 min. Seguidamente se vuelve a enfriar a 0°C y se adiciona una solución de metanosulfonato de 11-fenilundecilo (2.48 g, 7.6 mmol) en benceno (20 ml). Se deja en agitación durante 18 h a temperatura ambiente. Se añade sucesivamente hexano (25 ml), etanol (10 ml) y agua (50 ml). Se separan las dos fases formadas y la acuosa se extrae con éter etílico, se seca y se evapora el disolvente, obteniéndose un crudo que se purifica por cromatografía flash en columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de éter de petróleo:cloruro de metileno de polaridad creciente se obtienen 2.93 g de la oxazolina del título con un 85% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente cloroformo, $R_f = 0.25$

R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.26 (m, agudo, 14H); 1.59 (m, 4H); 2.60 (t, 2H); 3.45 (m, 3H); 3.74 (dd, 1H); 4.32 (m agudo, 1H); 4.49 (m, 2H); 7.2-8.0 (señal compleja, 10H).

Ejemplo 10

2-Fenil-4[(hexadeciloxi)metil]-2-oxazolina (XI, $n = 16$, $R^1 = H$).

25 Según el método descrito en el ejemplo 9 se ha preparado a partir de la 4-(hidroximetil)-2-oxazolina y el metanosulfonato de hexadecilo el compuesto del título con un rendimiento del 92%. Una vez cristalizado de cloroformo-éter de petróleo es un sólido blanco de punto de fusión 45-47°C.

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, $R_f = 0.78$

30 R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.25 (m agudo, 26H); 1.50 (m, 2H); 3.40 (m, 3H); 3.70 (dd, 1H); 4.28 (m agudo, 1H); 4.47 (m, 2H); 7.3-7.9 (señal compleja, 5H).

Ejemplo 11

1-O-(16-fenilhexadecil)-2-amino-2-desoziglicerol (XII, $n = 16$, $R^1 = C_6H_5$).

35 A una solución de 2-fenil-4-[(16-fenilhexadeciloxi) metil]-2-oxazolina (2.02 g, 4.24 mmol) en dioxano (10 ml) se añaden 68 ml de H_2SO_4 6N. Se deja en agitación 24 h a 100°C y a continuación se vierte sobre una mezcla de éter etílico (240 ml) y una solución saturada de Na_2CO_3 (120 ml), se va añadiendo Na_2CO_3 hasta obtener un pH básico. Se separan las dos fases formadas y la acuosa se extrae con éter etílico, se seca y se evaporan los disolventes, obteniéndose el compuesto del título con un rendimiento del 82%. Una vez cristalizado de éter etílico, es un sólido blanco de punto de fusión 79-81°C.

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, $R_f = 0.19$

40 R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.25 (m agudo, 24H); 1.55 (m, 4H); 2.58 (t, 2H); 3.05 (m, 1H); 3.40 (m, 4H); 3.48 (dd, 1H); 3.58 (dd, 1H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 12

1-O-(11-fenilundecil)-2-amino-2-desoziglicerol (XII, $n = 11$, $R^1 = C_6H_5$).

50 Según el método descrito en el ejemplo 11 se ha preparado a partir de la 2-fenil-4-[(11-fenilundeciloxi) metil]-2-oxazolina el compuesto del título como un sólido blanco de punto de fusión 75-77°C (87% de rdto.).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, $R_f = 0.20$

55 R.M.N. 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 1.28 (m agudo, 14H); 1.55 (m, 4H); 2.58 (t, 2H); 3.05 (m, 1H); 3.40 (m, 5H); 3.58 (dd, 1H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 13

1-O-Hexadecil-2-amino-2-desoziglicerol (XII, $n = 16$, $R^1 = H$).

60 Según el método descrito en el ejemplo 11 se ha preparado a partir de la 2-fenil-4-[(hexadeciloximetil)-2-oxazolina el compuesto del título como un sólido blanco de punto de fusión 68-70°C (83% de rdto.).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, $R_f = 0.10$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.85 (t, 3H); 1.25 (m agudo, 26H); 1.50 (m, 2H); 3.05 (m, 1H); 3.40 (m, 4H); 3.48 (dd, 1H); 3.58 (dd, 1H).

5 Ejemplo 14

1-O-(16-Fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol (II, $n = 16$, $R^1 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R^8 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}$).

10 A una solución de 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-amino-2-desoxiglicerol (0.66 g, 1.70 mmol) en cloroformo seco (40 ml) se añade, a 0°C , 0.21 g (1.70 mmol) de 4-dimetilaminopiridina y 0.47 g (1.70 mmol) de cloruro de palmitoilo. Se deja en agitación durante 1.5 h a 0°C . A continuación se lava con solución saturada de NaCl, se seca y se evapora el disolvente, obteniéndose el compuesto del título de cloroformo es un sólido blanco de punto de fusión $88-93^\circ\text{C}$.

15 C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, $R_f = 0.68$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.84 (t, 3H); 1.25 (m agudo, 48H); 1.55 (m, 6H); 2.18 (t, 2H); 2.56 (t, 2H); 3.40 (t, 2H); 3.56 (t, 2H); 3.63 (dd, 1H); 3.81 (dd, 1H); 4.03 (m, 1H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 15

20

1-O-(11-Fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol (II, $n = 11$, $R^1 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R^8 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}$).

Según el método descrito en el ejemplo 14 se ha preparado a partir del 1-O-(11-fenilundecil)-2-amino-2-desoxiglicerol el compuesto del título como un sólido blanco de punto de fusión $83-85^\circ\text{C}$ (72 % de rdt.).

25 C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, $R_f = 0.62$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.84 (t, 3H); 1.25 (m agudo, 38H); 1.55 (m, 6H); 2.19 (t, 2H); 2.58 (t, 2H); 3.40 (t, 2H); 3.57 (t, 2H); 3.64 (dd, 1H); 3.82 (dd, 1H); 4.03 (m, 1H); 7.20 (m, 5H).

30 Ejemplo 16

1-O-Hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol (II, $n = 16$, $R^1 = \text{H}$, $R^8 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}$).

Según el método descrito en el ejemplo 14 se ha preparado a partir de 1-O-(hexadecil)-2-amino-2-desoxiglicerol el compuesto del título como un sólido blanco de punto de fusión $92-94^\circ\text{C}$ (88% de rdt.).

35 C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol, 9:1, $R_f = 0.74$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.85 (t, 6H); 1.25 (m agudo, 50H); 1.55 (m, 4H); 2.18 (t, 2H); 3.40 (t, 2H); 3.55 (t, 2H); 3.65 (dd, 1H); 3.85 (dd, 1H); 4.05 (m, 1H).

40 Ejemplo 17

1-O-(16-Fenilhexadecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicerol (II, $n = 16$, $R^1 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R^8 = (\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}$).

45 A una solución de 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-amino-2-desoxiglicerol (0.392 g, 1.00 mmol) en cloroformo (40 ml) se añaden 0.335 g (1.20 mmol) de cloruro de tritilo y 0.121 g (1.20 mmol) de trietilamina. La mezcla se agita durante 20 h a temperatura ambiente. A continuación se diluye con cloroformo (20 ml), se lava con solución saturada de NaCl, se seca y se evapora el disolvente, obteniéndose un crudo que se purifica por cromatografía flash en columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de éter de petróleo:éter etílico de polaridad creciente se aislan 0.557 g del compuesto del título como un aceite amarillento (88 % rdt.).

50 C.C.F.: eluyente hexano:éter etílico, 1:1, $R_f = 0.40$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.35 (m, agudo, 24H); 1.50 (m, 2H); 1.68 (m, 2H); 2.65 (t, 2H); 2.80 (m, 2H); 3.05 (m, 1H); 3.20 (m, 3H); 3.50 (dd, 1H); 7.2-7.7 (señal compleja, 20H).

55 Ejemplo 18

1-O-(11-Fenilundecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicerol (II, $n = 11$, $R^1 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R^8 = (\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}$).

Según el método descrito en el ejemplo 17 se ha preparado a partir del 1-O-(11-fenilundecil)-2-amino-2-desoxiglicerol el compuesto del título como un aceite amarillento (95 % rdt.).

60 C.C.F.: eluyente hexano:éter etílico, 1:1, $R_f = 0.33$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.25 ((m agudo, 14H); 1.45 (m, 2H); 1.55 (m, 2H); 2.65 (t, 2H);

2.75 (m, 2H); 2.95 (m, 1H); 3.15 (m, 3H); 3.45 (dd, 1H); 7.2-7.7 (señal compleja, 20H).

Ejemplo 19

- 5 *1-O-(16-Fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol-3-fosfocolina* (I, n = 16, R¹ = C₆H₅, R² = CH₃(CH₂)₁₄CO, R³ = H, R⁴=R⁵=R⁶=CH₃).

A una suspensión de 2-bromoetilclorofosfato (0.050 g, 0.250 mmol), Et₃N (0.058 ml, 0.471 mmol) y 4 ml de tetrahidrofurano anhidro, se adicionan, a 0°C, 0.071 g (0.113 mmol) de 1-O-(16-fenilhexadecil)-
10 2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol disuelto en 2 ml de tetrahidrofurano. Se agita 48 h a temperatura ambiente y se añaden 0.030 ml de KCl 0.1M. Después de 1.25 h se extrae con éter etílico, se seca y se evapora el disolvente, obteniéndose 0.091 g de 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol-3-(2-brometil)-fosfato (rdto. cuantitativo).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.27

15 Este bromofosfato se disuelve en 5 ml de clorofomoro seco y se añaden 1 ml de trimetilamina. Se agita durante 20 h a 65°C y se evapora a sequedad, obteniéndose un crudo que se purifica por cromatografía flash en una columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de cloroformo:metanol de polaridad creciente se aislan 0.058 g del compuesto del título como un aceite semisólido (65 % rdto.).

20 C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.44

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.84 (t, 3H); 1.25 (m agudo, 48H); 1.55 (m, 6H); 2.15 (m, 2H); 2.56 (t, 2H); 3.25 (s, 9H); 3.40 (m, 4H); 3.70 (m, 2H); 3.90 (m, 2H); 4.15 (m, 2H); 4.25 (m, 1H); 7.20 (señal compleja, 5H).

25 Ejemplo 20

1-O-(11-Fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol-3-fosfocolina (I, n = 11, R¹ = C₆H₅, R² = CH₃(CH₂)₁₄CO, R³ = H, R⁴=R⁵=R⁶=CH₃).

30 Según el método descrito en el ejemplo 19 se ha preparado a partir del 1-O-(11-fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol el compuesto del título como un aceite incoloro (56 % rdto.).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.35

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.85 (t, 3H); 1.25 (m agudo, 38H); 1.55 (m, 6H); 2.20 (m, 2H); 2.58 (t, 2H); 3.25 (s, 9H); 3.40 (m, 4H); 3.70 (m, 2H); 3.90 (m, 2H); 4.15 (m, 2H); 4.25 (m, 1H); 7.20 (señal compleja, 5H).

Ejemplo 21

40 *1-O-(16-Fenilhexadecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicerol-3-fosfocolina* (I, n = 16, R¹ = C₆H₅, R² = (C₆H₅)₃C, R³ = H, R⁴=R⁵=R⁶=CH₃).

Según el método descrito en el ejemplo 19 se ha preparado a partir del 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicerol el compuesto del título como un aceite incoloro (65% rdto.).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.45

45 R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1.20 (m, 26H); 1.55 (m, 2H); 2.55 (t, 2H); 2.6-3.1 (señal compleja, 5H); 3.15 (s, 9H); 3.60 (m, 2H); 3.8-4.1 (señal compleja, 4H); 7.1-7.5 (señal compleja, 20H).

Ejemplo 22

50 *1-O-(11-Fenilundecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicerol-3-fosfocolina* (I, n = 11, R¹ = C₆H₅, R² = (C₆H₅)₃C, R³ = H, R⁴=R⁵=R⁶=CH₃).

Según el método descrito en el ejemplo 19 se ha preparado a partir del 1-O-(11-fenilundecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicerol el compuesto del título como un aceite incoloro (60 % rdto.).

55 C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.27

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1.25 (m, 16H); 1.60 (m, 2H); 2.55 (t, 2H); 2.6-3.1 (señal compleja, 5H); 3.15 (s, 9H); 3.60 (m, 2H); 3.9-4.2 (señal compleja, 4H); 7.1-7.5 (señal compleja, 20H).

Ejemplo 23

1-O-(16-Fenilhexadecil)-2-amonio-2-desoxiglicero-3-fosfocolina, sal con el ácido trifluoroacético (I, n = 16, R¹ = C₆H₅, R²=R³ = H, R⁴=R⁵=R⁶=CH₃).

A una solución de 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina (0.038 g, 0.048 mmol) en cloroformo (2 ml) se añaden 0.009 ml (0.12 mmol) de ácido trifluoroacético. Se deja en agitación durante 2 h a temperatura ambiente. Se evaporan los volátiles y el crudo obtenido se digiere con éter etílico, obteniéndose el producto del título con un 75% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f=0.24

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1.25 (m agudo, 24H); 1.55 (m, 4H); 2.55 (t, 2H); 3.18 (s, 9H); 3.36 (m, 2H); 3.55 (m, 2H); 3.70 (m, 2H); 3.9-4.4 (señal compleja, 5H); 7.2 (señal compleja, 5H).

Ejemplo 24

1-O-(11-Fenilundecil)-2-amino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina, sal con el ácido trifluoroacético (I, n = 11, R¹ = C₆H₅, R²=R³=H, R⁴=R⁵=R⁶=CH₃).

Según el método descrito en el ejemplo 23 se ha preparado a partir del 1-O-(11-fenilundecil)-2-tritilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina el compuesto del título como un aceite incoloro (80 % rdto.).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.10

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1.25 (m agudo, 14H); 1.50 (m, 4H); 2.55 (t, 2H); 3.18 (s, 9H); 3.38 (m, 2H); 3.55 (m, 2H); 3.70 (m, 2H); 3.9-4.4 (señal compleja, 5H); 7.2 (señal compleja, 5H).

Ejemplo 25

1-O-(11-Fenilundecil)-2-metilsulfonamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina (I, n = 11, R¹ = C₆H₅, R² = CH₃SO₂, R³ = H, R⁴=R⁵=R⁶=CH₃).

A una solución de trifluoroacetato de 1-O-(11-fenilundecil)-2-amino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina (0.054 g, 0.11 mmol) en cloruro de metileno (4 ml), enfriada a 0°C, se añaden 0.040 ml de etildiisopropilamina y 0.010 ml (0.12 mmol) de cloruro de metanosulfonilo. Se deja en agitación a temperatura ambiente durante 1.5 h. Se evapora a sequedad obteniéndose un crudo que se purifica por cromatografía en columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de cloroformo:metanol de polaridad creciente, se aislan 0.029 g del compuesto del título, como un aceite (56% rdto.).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.10

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 1.25 (m agudo, 14H); 1.55 (m, 4H); 2.55 (t, 2H); 3.00 (s, 3H); 3.30 (s, 9H); 3.4-3.7 (señal compleja, 5H); 3.75 (m, 2H); 3.90 (m, 2H); 4.30 (m, 2H); 7.2 (señal compleja, 5H).

Ejemplo 26

1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester bencilico (VI, n = 16, R¹ = C₆H₅, R⁸ = CH₃(CH₂)₁₄CO, R⁹=R¹⁰=COOCH₂H₅, R¹¹=H).

A una suspensión formada por imidazol (0.349 g, 5.09 mmol), PC₃ (0.135 ml, 1.53 mmol), Et₃N (0.759 ml, 5.31 mmol) y tetrahidrofurano anhidro (9 ml) a 0°C en atmósfera inerte, se adicionan durante 30 min 0.230 g (0.36 mmol) de 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicerol disuelto en 9 ml de tetrahidrofurano. Se agita 6h a temperatura ambiente. Se añade agua, se deja 30 min en agitación, se evapora a sequedad y se redisuelve en 50 ml de piridina: Et₃N (4:1), se evapora a sequedad, se añade agua y se extrae con cloroformo, se seca y se elimina el disolvente, obteniéndose la sal de trietilamonio de fosfonato correspondiente al alcohol de partida (rdto. cuantitativo).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.45

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.75 (t, 3H); 1.15 (m agudo, 48H); 1.28 (t, 9H); 1.45 (m, 6H); 2.08 (t, 2H); 2.50 (t, 2H); 3.00 (q, 6H); 3.35 (m, 4H); 3.88 (m, 2H); 4.15 (m, 1H); 6.85 (d, 1H); 7.1 (m, 5H).

A una mezcla formada por este fosfonato (0.272 g, 0.34 mmol), (N-benciloxycarbonil)serina ester bencilico (0.187 g, 0.57 mmol) y 15 ml de piridina, se añaden 0.128 ml (1.08 mmol) de cloruro de pivaloilo. Se agita durante 1.5 h a temperatura ambiente. Se añade 0.308 ml de agua y 0.182 g (0.74 mmol) de iodo. Se deja en agitación a temperatura ambiente durante 45 min. Se añade cloroformo, se lava con metabisulfitosódico, se seca y se evapora el disolvente, obteniéndose un crudo que se purifica por cromatografía flash en columna de sílica gel. Eluyendo con mezclas de cloroformo:metanol de polaridad creciente se aislan 0.260 g del compuesto del título como un aceite incoloro con un 75% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, $R_f = 0.51$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.85 (t, 3H); 1.25 (m agudo, 48H); 1.55 (m, 6H); 2.15 (m, 2H); 2.60 (t, 2H); 3.35 (m, 4H); 3.95 (m, 2H); 4.25 (m, 2H); 4.35 (m, 1H); 4.58 (m, 1H); 5.10 (m, 4H); 7.20 (señal compleja, 15H).

5 Ejemplo 27

1-O-Hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester bencílico (VI, $n = 16$, $R^1 = \text{H}$, $R^8 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}$, $R^9 = R^{10} = \text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, $R^{11} = \text{H}$).

10 Según el método descrito en el ejemplo 26 se ha preparado a partir del 1-hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero el compuesto del título como un aceite incoloro (65% rdt.).

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, $R_f = 0.56$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.85 (t, 6H); 1.20 (m agudo, 50H); 1.50 (m, 4H); 2.15 (m, 2H); 15 3.35 (m, 4H); 3.95 (m, 2H); 4.25 (m, 2H); 1.35 (m, 1H); 4.55 (m, 1H); 5.10 (m, 4H); 7.20 (m, 10H).

Ejemplo 28

1-O-Hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester metílico (VI, 20 $n = 16$, $R^1 = \text{H}$, $R^8 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}$, $R^9 = \text{COOCH}_3$, $R^{10} = \text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, $R^{11} = \text{H}$).

Según el método descrito en el ejemplo 26 se ha preparado a partir del 1-hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero y la (N-benciloxycarbonil)serina metil ester el compuesto del título como un aceite incoloro (55 % rdt.).

25 C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, $R_f = 0.45$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.85 (t, 6H); 1.25 (m agudo, 50H); 1.50 (m, 4H); 2.15 (m, 2H); 3.35 (m, 4H); 3.70 (s, 3H); 3.95 (m, 2H); 4.20 (m, 2H); 4.35 (m, 1H); 4.50 (m, 1H); 5.08 (m agudo, 2H); 7.30 (m, 5H).

30 Ejemplo 29

1-O-(16-Fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester bencílico (I, $n = 16$, $R^1 = \text{C}_6\text{H}_5$, $R^2 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}$, $R^3 = \text{COOH}$, $R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$).

35 A una solución de 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester bencílico (0.086 g, 0.084 mmol) en 6.3 ml de metanol:agua (9:1), se añaden 0.098 g de $\text{Pd}(\text{OH})_2$ sobre C del 20% y se deja en agitación 18 h a temperatura ambiente, bajo atmósfera de H_2 . Se filtra y se evapora a sequedad obteniéndose 0.058 g del producto del título con un 86% de rendimiento.

40 C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, $R_f = 0.35$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.80 (t, 3H); 1.25 (m agudo, 48H); 1.55 (m, 6H); 2.25 (m, 2H); 2.55 (t, 2H); 3.35 (m, 4H); 3.7-4.3 (señal compleja, 6H); 7.20 (m, 5H).

Ejemplo 30

45 1-O-Hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester bencílico (VI, $n = 16$, $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}$, $R^3 = \text{COOH}$, $R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$).

50 Según el método se ha descrito en el ejemplo 29 se ha preparado a partir de 1-O-hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester bencílico el compuesto del título con un 90% de rendimiento.

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, $R_f = 0.62$

R.M.N. ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.75 (t, 6H); 1.15 (m agudo, 50H); 1.45 (m, 4H); 2.10 (m, 2H); 55 3.30 (m, 4H); 3.75 (s, 3H); 3.78 (m, 2H); 4.0-4.4 (señal compleja, 4H).

Ejemplo 31

60 1-O-Hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester metílico (I, $n = 16$, $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}$, $R^3 = \text{COOCH}_3$, $R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$).

Según el método que se ha descrito en el ejemplo 29 se ha preparado a partir de 1-O-hexadecil-2-he-

xadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfo(N-benciloxycarbonil)serina ester metílico el compuesto del título con un 85 % de rendimiento.

C.C.F.: eluyente cloroformo:metanol:agua, 65:25:4, R_f = 0.50

R.M.N. ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.75 (t, 6H); 1.15 (m agudo, 50H); 1.45 (m, 4H); 2.10 (m, 2H); 3.30 (m, 4H); 3.7-4.2 (señal compleja, 6H).

Ejemplo 32

Determinación de la inhibición de la fosfolipasa A₂

La actividad de la PLA₂ se determina por valoración radiactiva del ácido graso marcado que esterifica la posición sn-2 del sustrato fosfolípido y que se libera por la acción del enzima. Como sustrato se utiliza las membranas fosfolípicas de E.coli, a las que previamente se ha incorporado ácido oléico marcado (1-¹⁴C). El enzima que se utiliza es la PLA₂ purificada del líquido sinovial humano.

La mezcla de reacción contiene 25 mM de tampón Hepes (pH 7.0), 5.0 mM Ca²⁺ y 1.4x10⁶ E.coli autoclavada (lo que corresponde a 10000 dpm y 10.0 nmol de fosfolípido). La reacción se inicia por adición de 80 ng de enzima purificado y se mantiene en agitación 5 minutos a 37°C. La reacción se interrumpe añadiendo 3.0 ml de CHCl₃:CH₃OH (1:2 v/v), los lípidos se extraen por el método de Bligh y Dyer y los productos de la reacción se separan por cromatografía en capa fina y se cuantifican las dpm por centelleo líquido.

El estudio del efecto inhibidor de la PLA₂ de los compuestos de la presente invención se realiza disolviéndolos en dimetilsulfóxido o etanol y añadiéndolos a la mezcla de reacción descrita arriba en la proporción requerida. El porcentaje de hidrólisis se calcula a través de la siguiente ecuación:

$$\% \text{Hidrólisis} = \frac{\text{ácido graso libre (dpm)}}{\text{fosfolípido no hidrolizado} + \text{ácido graso libre (dpm)}}$$

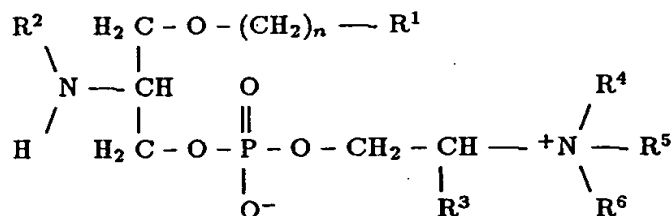
Los compuestos de la presente invención se han testado siguiendo este procedimiento, obteniéndose los resultados que se recogen en la siguiente tabla, expresados en IC₅₀.

Efecto inhibidor de la PLA₂ de líquido sinovial humano

Compuesto del Ejemplo N°	IC ₅₀ (μM)
20	50
23	5
24	50
25	50
28	50
29	10
30	10

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de los 2-aza-2-desoxifosfolípidos de fórmula I y sus sales farmacológicamente aceptables,



I

donde R¹ es hidrógeno o fenilo;

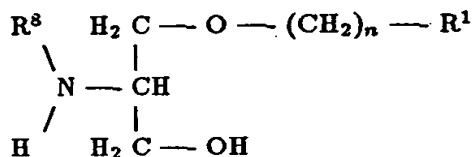
n es un entero comprendido entre 10 y 20;

R² es hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 20 átomos de carbono o bien un grupo R⁷-CO-, R⁷-O-CO, R⁷-SO₂-, en los que R⁷ es un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 20 átomos de carbono, fenilo o una cadena arilalquifílica de menos de 20 átomos de carbono;

R³ es un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo alcocixarbonilo, ariloxicarbonilo o arilalcocixarbonilo de menos de 10 átomos de carbono en los tres últimos casos, con la excepción de que R³ no puede ser hidrógeno cuando R¹ es también hidrógeno;

R⁴, R⁵ y R⁶, iguales o diferentes entre sí, son hidrógeno, grupos alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, arilo o arilalquilo de menos de 12 átomos de carbono, o bien R⁴R⁵R⁶N⁺ representa un grupo amonio aromático cíclico del tipo 1-piridinio, 1-quinolinio, 1-imidazolio, 1-pirazolio, 3-tiazolio, o bien R⁴R⁵R⁶N⁺ representa un grupo amonio cíclico no aromático en el que dos de los grupos (R⁴, R⁵ ó R⁶) forman un anillo junto con el átomo de nitrógeno, del tipo 1-pirrolidina, 1-piperidina, 4-morfolina, y el grupo restante es hidrógeno o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono;

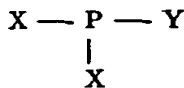
caracterizado porque partiendo de un compuesto de fórmula II,



II

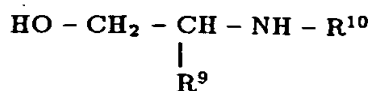
donde n y R¹ tienen los valores anteriormente definidos y R⁸ puede ser equivalentes al grupo R² anterior o bien, si R² en la fórmula I es hidrógeno, entonces R⁸ es un grupo protector de aminas adecuado, por ejemplo trifenilmetilo; se hace reaccionar:

a) en el caso de que R³ en I signifique los grupos antes definidos excepto hidrógeno, con un reactivo III



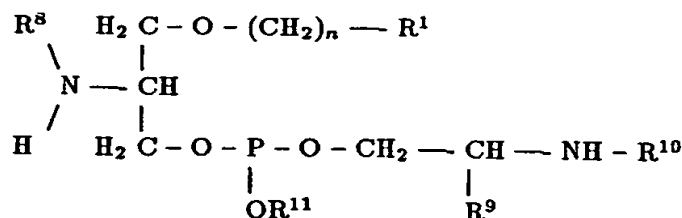
III

donde X es halógeno, preferiblemente cloro, e Y es cloro, ariloxi o un grupo alcoxi de menos de 8 átomos de carbono, en presencia de una base captadora de protones, tal como la trietilamina y/o una base moderadamente nucleófila como el imidazol y/o con agentes condensantes, como por ejemplo el cloruro de pivaloilo, en el seno de disolventes apropiados como acetonitrilo o tolueno, a una temperatura comprendida entre 0° y 40°C durante un periodo de tiempo entre 3 y 18 horas. Subsiguientemente se hace reaccionar con un producto IV,



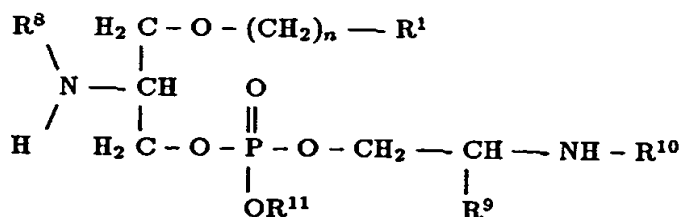
IV

donde R^9 puede ser equivalente al grupo R^3 en la fórmula I excepto hidrógeno y cuando en I, R^3 es un grupo carboxilo, entonces R^9 es un grupo carboxilo convenientemente protegido, por ejemplo en forma de ester bencílico, o terc-butilico, y R^{10} es un grupo protector de aminas, preferiblemente benciloxicarbonilo o terc-butiloxicarbonilo, obteniéndose así un intermedio de fórmula V,



V

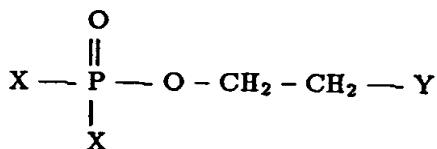
donde R^{11} es hidrógeno, o un grupo protector adecuado, como por ejemplo metilo o fenilo; a través de la oxidación de este compuesto V, preferiblemente con iodo o peróxido de hidrógeno, en un disolvente apropiado, como cloruro de metileno o piridina húmeda, a una temperatura comprendida entre 0° y 25°C durante un periodo de tiempo entre 1 y 5 horas, se obtiene un intermedio VI,



VI

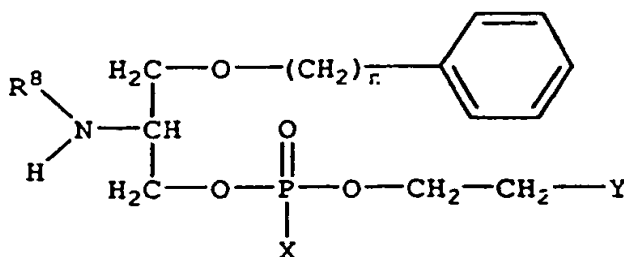
este compuesto de fórmula VI se convierte en I por eliminación del grupo protector R^{10} y, en su caso, los grupos protectores R^{11} y el que puede estar presente en R^9 , según los métodos habituales en síntesis química; si R^8 en la fórmula VI es un grupo protector de amina, como tritilo, se lleva a cabo su desprotección para obtener productos I con R^2 igual a hidrógeno, los cuales a su vez pueden convertirse opcionalmente en los compuestos I restantes con R^2 diferente de hidrógeno mediante una reacción de alquilación, acilación o sulfonilación con los haluros de alquilo o los haluros o anhídridos de ácido (R^7X , R^7COX , R^7OCOX ó $\text{R}^7\text{SO}_2\text{X}$) apropiados.

b) En el caso de que en I R^1 sea un grupo fenilo y R^3 sea hidrógeno, un producto de fórmula II se hace reaccionar con un reactivo VII,



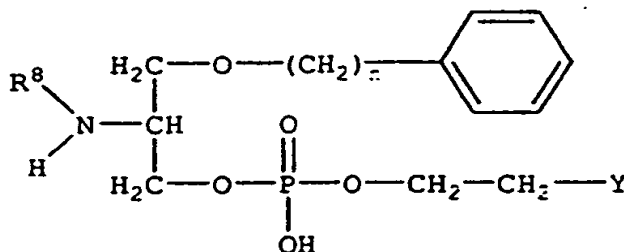
VII

donde X es halógeno, preferiblemente cloro, e Y es halógeno, preferiblemente bromo, en presencia de una amina tal como la trietilamina en el seno de un disolvente orgánico inerte, tal como éter etílico o THF a una temperatura comprendida entre 0° y 50°C durante un periodo de tiempo entre 6 y 24 horas, para dar un compuesto de fórmula VIII



VIII

donde n, R⁸, X e Y son los valores y grupos antes descritos. Seguidamente la hidrólisis acuosa, usando una disolución salina, tal como disolución de cloruro potásico a una temperatura comprendida entre 0° y 80°C durante un periodo de tiempo entre 1 y 3 horas, conduce a la obtención de un compuesto de fórmula IX



IX

Este compuesto IX se hace reaccionar con la amina adecuada NR⁴R⁵R⁶, donde R⁴, R⁵ y R⁶ son los grupos antes definidos, en el seno de un disolvente orgánico apropiado, tal como acetonitrilo, cloroformo o benceno, a una temperatura comprendida entre 40°C y reflujo del disolvente durante un periodo de tiempo entre 24 y 48 horas, para dar directamente, cuando R⁸ es igual a R², un compuesto de fórmula I; o bien en caso de que R⁸ sea un grupo protector de amina, se efectúa su desprotección por los métodos habituales para obtener un producto I con R² igual a hidrógeno, el cual opcionalmente puede convertirse en los compuestos I restantes, tal como se ha indicado más arriba; finalmente, si se desea obtener una determinada sal de I, se trata con el ácido, la base o el intercambiador iónico apropiado para tal fin, según los métodos habituales en química.

2. Procedimiento según la reivindicación 1 caracterizado porque R³ es hidrógeno, -COOH ó -COOCH₃ y los grupos R⁴, R⁵ y R⁶ son hidrógeno o metilo.

3. Procedimiento según la reivindicación 2 caracterizado porque R² es hidrógeno, un grupo R⁷CO- o un grupo R⁷SO₂-, en los que R⁷ es un grupo alquilo lineal de 1 a 20 átomos de carbono.

4. Procedimiento según la reivindicación 3 caracterizado porque R³ es hidrógeno y los grupos R⁴, R⁵ y R⁶ son metilo.

5. Procedimiento según la reivindicación 3 caracterizado porque R³ es -COOH ó -COOCH₃ y los grupos R⁴, R⁵ y R⁶ son hidrógeno.

6. Procedimiento según la reivindicación 4 caracterizado porque R^1 es fenilo, n es igual a 11, R^2 es un resto hexadecanoilo, R^3 es hidrógeno y R^4 , R^5 y R^6 son grupos metilo, es decir, donde el compuesto obtenido es la 1-O-(11-fenilundecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina.

5 7. Procedimiento según la reivindicación 4 caracterizado porque R^1 es fenilo, n es igual a 16, R^2 es un resto hexadecanoilo, R^3 es hidrógeno y R^4 , R^5 y R^6 son grupos metilo, es decir, donde el compuesto obtenido es la 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina.

10 8. Procedimiento según la reivindicación 4 caracterizado porque R^1 es fenilo, n es igual a 11, R^2 y R^3 son hidrógeno y R^4 , R^5 y R^6 son grupos metilo, es decir, donde el compuesto obtenido es la 1-O-(11-fenilundecil)-2-amino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina.

15 9. Procedimiento según la reivindicación 4 caracterizado porque R^1 es fenilo, n es igual a 16, R^2 y R^3 son hidrógeno y R^4 , R^5 y R^6 son grupos metilo, es decir, donde el compuesto obtenido es la 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-amino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina.

20 10. Procedimiento según la reivindicación 4 caracterizado porque R^1 es fenilo, n es igual a 11, R^2 es un resto metilsulfonilo, R^3 es hidrógeno y R^4 , R^5 y R^6 son grupos metilo, es decir, donde el compuesto obtenido es la 1-O-(11-fenilundecil)-2-metilsulfonilamino-2-desoxiglicero-3-fosfocolina.

25 11. Procedimiento según la reivindicación 5 caracterizado porque R^1 es fenilo, n es igual a 16, R^2 es un resto hexadecanoilo, R^3 es un grupo carboxilato y R^4 , R^5 y R^6 son hidrógeno, es decir, donde el compuesto obtenido es la 1-O-(16-fenilhexadecil)-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina.

30 12. Procedimiento según la reivindicación 5 caracterizado porque R^1 es hidrógeno, n es igual a 16, R^2 es un resto hexadecanoilo, R^3 es un grupo carboxilato y R^4 , R^5 y R^6 son hidrógeno, es decir, donde el compuesto obtenido es la 1-O-hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina.

35 13. Procedimiento según la reivindicación 5 caracterizado porque R^1 es hidrógeno, n es igual a 16, R^2 es un resto hexadecanoilo, R^3 es un grupo metoxycarbonilo y R^4 , R^5 y R^6 son hidrógeno, es decir, donde el compuesto obtenido es el éster metílico de la 1-O-hexadecil-2-hexadecanoilamino-2-desoxiglicero-3-fosfoserina.

35

40

45

50

55

60



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 034 884

⑫ N.º solicitud: 9101610

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 10.07.91

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.⁵: C07F 9/10 // A61K 31/685

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US-A-4702864-(MAGOLDA et.al.) * Reivindicaciones *	1-13
A	J.ORG.CHEM.,48,1983, Hajdo et.al. "Stereospecific Synthesis of Ether Phospholipids. Preparation of 1-Alkyl-2-(acylamino)-2-deoxyglycerophosphorycholines", pág. 1197-1202	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
02.07.92

Examinador
I. Seriñá Ramírez

Página
1/1

THIS PAGE BLANK (USPTO)